

Air dan air limbah – Bagian 72: Cara uji Kebutuhan Oksigen Biokimia (*Biochemical Oxygen Demand/ BOD*)



© BSN 2009

Hak cipta dilindungi undang-undang. Dilarang menyalin atau menggandakan sebagian atau seluruh isi dokumen ini dengan cara dan dalam bentuk apapun dan dilarang mendistribusikan dokumen ini baik secara elektronik maupun tercetak tanpa izin tertulis dari BSN

BSN
Gd. Manggala Wanabakti
Blok IV, Lt. 3,4,7,10.
Telp. +6221-5747043
Fax. +6221-5747045
Email: dokinfo@bsn.go.id
www.bsn.go.id

Diterbitkan di Jakarta

Daftar isi

Daftar Isi	i
Prakata	ii
1 Ruang lingkup.....	1
2 Acuan normatif.....	1
3 Istilah dan definisi	1
4 Cara uji	2
5 Pengendalian mutu.....	8
Lampiran A (informatif) Bagan alir persiapan bibit mikroba.....	9
Lampiran B (normatif) Pembuatan medium mineral	10
Lampiran C (informatif) Perkiraan nilai BOD ₅ berdasarkan nilai COD serta penentuan volume air pengencer	11
Lampiran D (informatif) Daftar konsentrasi jenuh oksigen pada suhu tertentu.....	12
Lampiran E (informatif) Contoh format pelaporan hasil uji BOD ₅	13
Lampiran F (informatif) Hasil validasi metode BOD.....	15
Lampiran G (informatif) Lembar modifikasi.....	19
Bibliografi	20

Prakata

Standar Nasional Indonesia (SNI) ini merupakan revisi dari SNI 06-2503-1991, *Air, Metode pengujian kadar kebutuhan oksigen biokimiawi*. SNI ini menggunakan referensi dari metode standar internasional yaitu *Standard Methods for the Examination Of Water and Wastewater 21 th Edition*, editor L.S.Clesceri, A.E.Greenberg, A.D.Eaton, APHA, AWWA and WPCF, Washington DC (2005). SNI ini telah melalui uji coba di laboratorium pengujian dalam rangka validasi dan verifikasi metode serta dikonsensuskan oleh Subpanitia Teknis 13-03-S1, *Kualitas Air* dari Panitia Teknis 13-03, *Kualitas Lingkungan dan Manajemen Lingkungan* dengan para pihak terkait.

SNI ini telah disepakati dan disetujui dalam rapat konsensus dengan peserta rapat yang mewakili produsen, konsumen, ilmuwan, instansi teknis dan pemerintah terkait pada tanggal 12 Nopember 2007 di Serpong dan telah melalui jajak pendapat pada tanggal 23 Desember 2008 sampai dengan tanggal 23 Februari 2009.

Dengan ditetapkannya SNI 6989.72-2009 ini, maka penerapan SNI 06-2503-1991, dinyatakan tidak berlaku lagi. Pemakai SNI agar dapat meneliti validasi SNI yang terkait dengan metode ini, sehingga dapat selalu menggunakan SNI edisi terakhir.



Air dan air limbah – Bagian 72: Cara uji Kebutuhan Oksigen Biokimia (*Biochemical Oxygen Demand/BOD*)

1 Ruang lingkup

Cara uji ini digunakan untuk menentukan jumlah oksigen terlarut yang dibutuhkan oleh mikroba aerobik untuk mengoksidasi bahan organik karbon dalam contoh uji air limbah, efluen atau air yang tercemar yang tidak mengandung atau yang telah dihilangkan zat-zat toksik dan zat-zat pengganggu lainnya. Pengujian dilakukan pada suhu $20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ selama 5 hari \pm 6 jam.

2 Acuan normatif

SNI 6989.57:2008, *Air dan air limbah – Bagian 57: Metoda pengambilan contoh air permukaan*.

SNI 6989.59:2008, *Air dan air limbah – Bagian 59: Metoda pengambilan contoh air limbah*.

SNI 06-6989.14-2004, *Air dan air limbah - Bagian 14: Cara uji oksigen terlarut secara yodometri (modifikasi azida)*.

Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 21st Edition, 2005: Membrane electrode method (4500-O G).

Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 21st Edition, 2005: Pour Plate method (9215 B).

Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 21st Edition, 2005: Fixed and Volatile Solids Ignited at 550 °C (2540 E).

3 Istilah dan definisi

3.1

air bebas mineral

air yang diperoleh dengan cara penyulingan ataupun proses demineralisasi sehingga diperoleh air dengan konduktifitas lebih kecil dari 1 $\mu\text{S/cm}$

3.2

air pengencer

larutan jenuh oksigen yang telah diperkaya oleh nutrisi dan suspensi bibit mikroba

3.3

blanko

air pengencer yang diperlakukan seperti contoh uji

3.4

Kebutuhan Oksigen Biokimia (*Biochemical Oxygen Demand/BOD*)

jumlah miligram oksigen yang dibutuhkan oleh mikroba aerobik untuk menguraikan bahan organik karbon dalam 1 L air selama 5 hari pada suhu $20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$

3.5

larutan jenuh oksigen

air bebas mineral yang mengandung oksigen jenuh

3.6

Mix Liquor Suspended Solid (MLSS)

jumlah miligram biomassa mikroba campuran yang tersuspensi dalam 1 L medium cair

3.7

oksigen terlarut nol hari

kadar oksigen terlarut sebelum diinkubasi pada suhu $20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$

3.8

oksigen terlarut lima hari

kadar oksigen terlarut setelah diinkubasi selama 5 hari pada suhu $20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$

3.9

suspensi bibit mikroba

biakan mikroba yang dipelihara dan dipersiapkan untuk uji BOD

4 Cara uji

4.1 Prinsip

Sejumlah contoh uji ditambahkan ke dalam larutan pengencer jenuh oksigen yang telah ditambah larutan nutrisi dan bibit mikroba, kemudian diinkubasi dalam ruang gelap pada suhu $20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ selama 5 hari. Nilai BOD dihitung berdasarkan selisih konsentrasi oksigen terlarut 0 (nol) hari dan 5 (lima) hari. Bahan kontrol standar dalam uji BOD ini, digunakan larutan glukosa-asam glutamat.

4.2 Bahan

4.2.1 air bebas mineral

4.2.2 larutan nutrisi

4.2.2.1 Larutan buffer fosfat;

a) Cara 1

Larutkan 8,5 g kalium dihidrogen fosfat (KH_2PO_4); 21,75 g dikalium hidrogen fosfat (K_2HPO_4); 33,4 g dinatrium hidrogen fosfat heptahidrat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) dan 1,7 g amonium klorida (NH_4Cl) dalam air bebas mineral, kemudian encerkan hingga 1 L. Larutan ini menghasilkan pH 7,2.

b) Cara 2

Larutkan 42,5 g kalium dihidrogen fosfat (KH_2PO_4); 1,7 g amonium klorida (NH_4Cl) dalam 700 mL air bebas mineral, atur pH larutan sampai 7,2 dengan penambahan larutan NaOH 30 %, kemudian encerkan hingga 1 L.

4.2.2.2 Larutan magnesium sulfat;

Larutkan 22,5 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dengan air bebas mineral, kemudian encerkan hingga 1 L.

4.2.2.3 Larutan kalsium klorida;

Larutkan 27,5 g CaCl_2 anhidrat dengan air bebas mineral, kemudian encerkan hingga 1 L.

4.2.2.4 Larutan feri klorida;

Larutkan 0,25 g $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ dengan air bebas mineral, kemudian encerkan hingga 1 L.

4.2.3 Larutan suspensi bibit mikroba;

Sumber bibit mikroba dapat diperoleh dari limbah domestik, efluen dari pengolahan limbah secara biologis yang belum mengalami klorinasi dan penambahan desinfektan atau air sungai yang menerima buangan limbah organik. Sebaiknya bibit mikroba diperoleh dari pengolahan limbah secara biologis. Pembuatan suspensi bibit mikroba dapat dilakukan dengan 3 cara sebagai berikut:

4.2.3.1 Cara 1

- ambil supernatan dari sumber bibit mikroba (limbah domestik atau efluen pengolahan limbah);
- lakukan aerasi dengan segera terhadap supernatan tersebut, sampai akan digunakan.

4.2.3.2 Cara 2

Cara ini dilakukan berdasarkan standar *OECD guideline for testing of chemicals, 301 -1992 ready biodegradability*, dengan uraian sebagai berikut (Lampiran A):

- ambil air dari bak aerasi pada sistem pengolahan lumpur aktif;
- pisahkan partikel-partikel kasar dari air lumpur aktif dengan cara penyaringan;
- suspensi lumpur aktif yang telah dipisahkan dari partikel kasar, diendapkan selama 30 menit atau disentrifugasi pada putaran 100 x g selama 10 menit;
- endapan dipisahkan, kemudian endapan ditambahkan ke dalam medium mineral (Lampiran B) sampai kandungan padatan tersuspensi 3 g sampai dengan 5 g MLSS/L atau jumlah mikroba 10^7 sel/L sampai dengan 10^8 sel/L;
- homogenkan padatan tersuspensi dengan alat blender pada kecepatan sedang selama 2 menit, kemudian diendapkan selama ± 30 menit;
- supernatan dipisahkan dan digunakan sebagai bibit mikroba;
- sebelum digunakan, supernatan tersebut dikocok dengan menggunakan *shaker* selama 5 sampai dengan 7 hari pada suhu yang sama dengan suhu pengujian ($20^\circ\text{C} \pm 3^\circ\text{C}$).

CATATAN 1 Analisis perhitungan mikroba dilakukan menurut *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 21st Edition, 2005: Pour Plate method (9215 B)*.

CATATAN 2 Analisis MLSS dilakukan menurut *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 21st Edition, 2005: Fixed and Volatile Solids Ignited at 550°C (2540 E)*.

4.2.3.3 Cara 3

Suspensi bibit mikroba dapat dibuat dari BOD seed yang tersedia secara komersial.

4.2.4 Larutan air pengencer

- siapkan air bebas mineral yang jenuh oksigen atau minimal 7,5 mg/L, dalam botol gelas yang bersih, kemudian atur suhunya pada kisaran $20^\circ\text{C} \pm 3^\circ\text{C}$;
- tambahkan ke dalam setiap 1 L air bebas mineral jenuh oksigen tersebut, masing-masing 1 mL larutan nutrisi (4.2.2) yang terdiri dari larutan bufer fosfat, MgSO_4 , CaCl_2 dan FeCl_3 ;

- c) tambahkan juga bibit mikroba ke dalam setiap 1 L air bebas mineral, untuk:
 Cara 1 : 1 mL sampai dengan 3 mL (bibit mikroba pada langkah 4.2.3.1) dan aduk sampai homogen; atau
 Cara 2 : 1 mL sampai dengan 10 mL (bibit mikroba pada langkah 4.2.3.2) dan aduk sampai homogen; atau
 Cara 3 : Bibit mikroba pada langkah 4.2.3.3, sesuai petunjuk penggunaan.

CATATAN 1 Penjenuhan oksigen dapat dilakukan dengan cara mengalirkan udara ke dalam air dengan menggunakan aerator yang dilengkapi filter bebas organik. Apabila digunakan udara tekan, udara tersebut tidak boleh mengandung zat-zat lain, seperti minyak, air dan gas.

CATATAN 2 Larutan air pengencer, harus dibuat langsung saat akan digunakan.

CATATAN 3 Volume bibit mikroba yang ditambahkan, dapat berdasarkan hasil uji glukosa-asam glutamat yang menghasilkan nilai BOD $198 \text{ mg/L} \pm 30,5 \text{ mg/L}$.

4.2.5 Larutan glukosa-asam glutamat

Keringkan glukosa (p.a) dan asam glutamat (p.a) pada 103°C selama 1 jam. Timbang 150 mg glukosa dan 150 mg asam glutamat, kemudian larutkan dengan air bebas mineral hingga 1 L.

4.2.6 Larutan asam dan basa 1 N

4.2.6.1 Larutan asam sulfat

Tambahkan 28 mL H_2SO_4 pekat sedikit demi sedikit ke dalam $\pm 800 \text{ mL}$ air bebas mineral sambil diaduk. Encerkan dengan air bebas mineral hingga 1 L.

4.2.6.2 Larutan natrium hidroksida

Larutkan 40 g NaOH dalam air bebas mineral hingga 1 L.

4.2.7 Larutan natrium sulfit;

Larutkan 1,575 g Na_2SO_3 dalam 1 L air bebas mineral. Larutan ini disiapkan segera saat akan digunakan.

4.2.8 Inhibitor nitrifikasi Allylthiourea (ATU);

Larutkan 2,0 g ATU ($\text{C}_4\text{H}_8\text{N}_2\text{S}$) dalam 500 mL air bebas mineral, kemudian tambahkan air bebas mineral hingga 1 L. Simpan pada suhu 4°C . Larutan ini stabil maksimum 2 minggu.

4.2.9 Asam asetat;

Encerkan 250 mL asam asetat (CH_3COOH) glasial (massa jenis 1,049) dengan 250 mL air bebas mineral.

4.2.10 Larutan kalium iodida 10%;

Larutkan 10 g kalium iodida (KI) dengan air bebas mineral hingga 100 mL.

4.2.11 Larutan indikator amilum (kanji).

Masukkan 2 g kanji dan $\pm 0,2 \text{ g}$ asam salisilat ke dalam 100 mL air bebas mineral panas kemudian aduk sambil dipanaskan hingga larut.

4.3 Peralatan

- a) botol DO;
- b) lemari inkubasi atau *water cooler*, suhu $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, gelap;
- c) botol dari gelas 5 L – 10 L;
- d) pipet volumetrik 1,0 mL dan 10,0 mL;
- e) labu ukur 100,0 mL; 200,0 mL dan 1000,0 mL;
- f) pH meter;
- g) DO meter yang terkalibrasi;
- h) *shaker*;
- i) blender;
- j) oven; dan
- k) timbangan analitik.

CATATAN Apabila tidak tersedia lemari inkubasi atau *water cooler*, dapat digunakan ruang dengan kondisi suhu $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, gelap.

4.4 Prosedur

4.4.1 Persiapan

4.4.1.1 Pengambilan contoh uji

Contoh uji di ambil berdasarkan SNI 06-6989.57-2008 untuk metoda pengambilan contoh air permukaan dan SNI 06-6989.59-2008 untuk metoda pengambilan contoh air limbah.

4.4.1.2 Penyimpanan contoh

a) Penyimpanan contoh sesaat (*grab samples*)

Suhu penyimpanan contoh sesaat dapat dilihat pada Tabel 1 di bawah ini.

Tabel 1 - Suhu penyimpanan contoh

Lama penyimpanan contoh	Suhu penyimpanan
< 2 jam	Tidak perlu disimpan di lemari pendingin
2 – 6 jam	$\leq 4^{\circ}\text{C}$
6 – 24 jam	$\leq 4^{\circ}\text{C}$ dan catat lama waktu penyimpanan
> 24 jam	Contoh tidak mewakili uji BOD

b) Penyimpanan contoh gabungan (*composite samples*)

Selama pengumpulan, penyimpanan contoh dilakukan pada suhu $\leq 4^{\circ}\text{C}$. Batas periode pengumpulan contoh maksimal 24 jam dari waktu pengambilan contoh terakhir. Gunakan kriteria lama penyimpanan contoh gabungan, seperti pada pengambilan contoh sesaat (Tabel 1).

4.4.2 Persiapan pengujian

4.4.2.1 Pengaturan pH

- a) Kondisikan contoh uji pada suhu $20^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$.
- b) Lakukan pengukuran pH contoh, jika nilainya tidak dalam kisaran 6,0 - 8,0, atur pH pada kisaran tersebut dengan penambahan larutan H_2SO_4 atau NaOH .
- c) Penambahan asam atau basa tidak boleh mengakibatkan pengenceran lebih dari 0,5%.

4.4.2.2 Penghilangan zat-zat pengganggu

4.4.2.2.1 Contoh uji mengandung klorin sisa (*residual chlorine compounds*)

- a) Ke dalam 100 mL contoh uji, tambahkan 10 mL larutan kalium iodida (10%), 10 mL asam asetat (1+1) dan beberapa tetes indikator larutan kanji. Jika terjadi warna biru, titrasi dengan larutan natrium sulfit sampai warna biru tepat hilang. Catat pemakaian larutan natrium sulfit (a mL).
- b) Ke dalam 100 mL contoh uji yang lain, tambahkan a mL larutan natrium sulfit, kocok dan biarkan 10 menit. Kemudian tambahkan 10 mL larutan kalium iodida dan 10 mL asam asetat. Bila campuran berwarna biru, titrasi dengan larutan natrium sulfit sampai warna biru tepat hilang. Catat pemakaian larutan natrium sulfit (b mL).
- c) Ke dalam 100 mL contoh uji yang akan diuji BOD nya, tambahkan (a + b) mL larutan natrium sulfit.

4.4.2.2.2 Contoh uji mengandung senyawa toksik lain

Terhadap contoh uji-contoh uji yang mengandung senyawa toksik, lakukan perlakuan khusus untuk menghilangkannya. Salah satu perlakuan adalah dengan cara pengenceran (lihat Tabel 2).

4.4.2.2.3 Contoh uji mengandung hidrogen peroksida

- a) kocok contoh uji dalam wadah terbuka selama 1-2 jam atau lebih;
- b) hentikan pengocokan dan ukur oksigen terlarut;
- c) biarkan tanpa pengocokan selama 30 menit;
- d) hidrogen peroksida dinyatakan hilang, bila dalam perioda waktu 30 menit tanpa pengocokan tidak terjadi peningkatan konsentrasi oksigen terlarut.

4.4.2.2.4 Contoh uji mengandung oksigen terlarut lewat jenuh

Hilangkan kelebihan oksigen dengan cara pengocokan atau diaerasi pada suhu $20^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$.

4.4.2.3 Larutan glukosa-asam glutamat

- a) kondisikan larutan glukosa-asam glutamat pada suhu $20^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$;
- b) masukkan 20 mL larutan glukosa-asam glutamat (4.2.5) ke dalam labu ukur 1 L;
- c) encerkan dengan larutan air pengencer (4.2.4) hingga 1 L;
- d) aduk sampai homogen.

4.4.2.4 Larutan contoh uji

- a) kondisikan contoh uji pada suhu $20^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$;
- b) dalam labu ukur, lakukan pengenceran contoh uji dengan larutan pengencer (4.2.4) hingga 1 L. Jumlah pengenceran sangat tergantung pada karakteristik contoh uji, dan dipilih pengenceran yang diperkirakan dapat menghasilkan penurunan oksigen terlarut minimal 2,0 mg/L dan sisa oksigen terlarut minimal 1,0 mg/L setelah inkubasi 5 hari.

- c) pengenceran contoh uji dapat dilakukan berdasarkan faktor pengenceran seperti dalam Tabel 2.

Tabel 2 - Jumlah contoh uji

Jenis contoh uji	Jumlah contoh uji (%)	Faktor pengenceran
Limbah industri yang sangat pekat	0,01 – 1,0	10000 - 100
Limbah yang diendapkan	1,0 – 5,0	100 - 20
Efluen dari proses biologi	5,0 – 25	20 - 4
Air sungai	25 -100	4 - 1
Sumber: <i>Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 21st Edition, 2005: Biochemical Oxygen Demand (5210).</i>		

4.4.3 Pengujian

- siapkan 2 buah botol DO, tandai masing-masing botol dengan notasi A_1 ; A_2 ;
- masukkan larutan contoh uji (4.4.2.4) ke dalam masing-masing botol DO A_1 dan A_2 ; sampai meluap, kemudian tutup masing masing botol secara hati-hati untuk menghindari terbentuknya gelembung udara;
- lakukan pengocokan beberapa kali, kemudian tambahkan air bebas mineral pada sekitar mulut botol DO yang telah ditutup;
- simpan botol A_2 dalam lemari inkubator $20^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ selama 5 hari;
- lakukan pengukuran oksigen terlarut terhadap larutan dalam botol A_1 dengan alat DO meter yang terkalibrasi sesuai dengan *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 21st Edition, 2005: Membrane electrode method (4500-O G)* atau dengan metoda titrasi secara iodometri (modifikasi Azida) sesuai dengan SNI 06-6989.14-2004. Hasil pengukuran, merupakan nilai oksigen terlarut nol hari (A_1). Pengukuran oksigen terlarut pada nol hari harus dilakukan paling lama 30 menit setelah pengenceran;
- ulangi pengerjaan 4.4.3 butir e) untuk botol A_2 yang telah diinkubasi 5 hari \pm 6 jam. Hasil pengukuran yang diperoleh merupakan nilai oksigen terlarut 5 hari (A_2);
- lakukan pengerjaan 4.4.3 butir a) sampai f) untuk penetapan blanko dengan menggunakan larutan pengencer tanpa contoh uji (4.2.3). Hasil pengukuran yang diperoleh merupakan nilai oksigen terlarut nol hari (B_1) dan nilai oksigen terlarut 5 hari (B_2);
- lakukan pengerjaan 4.4.3 butir a) sampai f) untuk penetapan kontrol standar dengan menggunakan larutan glukosa-asam glutamat (4.4.2.3). Hasil pengukuran yang diperoleh merupakan nilai oksigen terlarut nol hari (C_1) dan nilai oksigen terlarut 5 hari (C_2);
- lakukan kembali pengerjaan 4.4.3 butir a) sampai butir f) terhadap beberapa macam pengenceran contoh uji.

CATATAN 1 Untuk mencegah terjadinya proses nitrifikasi dapat ditambahkan larutan inhibitor nitrifikasi (4.2.8) 1 mL per 1 L larutan pengencer.

CATATAN 2 Oksigen terlarut dalam air pengencer yang dikonsumsi mikroba selama 5 hari berkisar antara 0,6 mg/L – 1,0 mg/L.

CATATAN 3 Frekuensi pengerjaan untuk penetapan blanko (4.4.3. butir g) dan kontrol standar dengan glukosa-asam glutamat (4.4.3. butir h) dilakukan 5% - 10% per *batch* (satu seri pengukuran) atau minimal 1 kali untuk jumlah contoh uji kurang dari 20.

4.5 Pernyataan hasil

4.5.1 Perhitungan nilai BOD₅

a) Nilai BOD₅ contoh uji dihitung sebagai berikut:

$$\text{BOD}_5 = \frac{(A_1 - A_2) - \left(\frac{(B_1 - B_2)}{V_B} \right) V_c}{P}$$

dengan pengertian:

BOD ₅	adalah nilai BOD ₅ contoh uji (mg/L);
A ₁	adalah kadar oksigen terlarut contoh uji sebelum inkubasi (0 hari) (mg/L);
A ₂	adalah kadar oksigen terlarut contoh uji setelah inkubasi 5 hari (mg/L);
B ₁	adalah kadar oksigen terlarut blanko sebelum inkubasi (0 hari) (mg/L);
B ₂	adalah kadar oksigen terlarut blanko setelah inkubasi 5 hari (mg/L);
V _B	adalah volume suspensi mikroba (mL) dalam botol DO blanko;
V _c	adalah volume suspensi mikroba dalam botol contoh uji (mL);
P	adalah perbandingan volume contoh uji (V ₁) per volume total (V ₂).

CATATAN Bila contoh uji tidak ditambah bibit mikroba V_B = 0.

4.5.2 Laporan hasil uji

Laporkan nilai BOD₅ dari hasil perhitungan yang memenuhi batas keberterimaan pengendalian mutu

5 Pengendalian mutu

- Gunakan bahan kimia pro analisis (p.a).
- Gunakan alat gelas bebas kontaminan.
- Gunakan alat ukur yang terkalibrasi atau terverifikasi.
- Dikerjakan oleh analis/penguji yang kompeten.
- Gunakan air bebas mineral yang bebas kontaminan, penurunan konsentrasi oksigen terlarut maksimum < 0,4 mg/L selama 5 hari.
- Nilai BOD₅ larutan kontrol standar glukosa-asam glutamat berada pada kisaran 198 ± 30,5 mg/L, dengan rumus perhitungan sebagai berikut:

Nilai BOD₅ kontrol standar dihitung sebagai berikut:

$$\text{BOD}_5 = \frac{(C_1 - C_2) - \left(\frac{(B_1 - B_2)}{V_B} \right) V_s}{P}$$

dengan pengertian:

BOD ₅	adalah nilai BOD ₅ kontrol standar (2 ulangan) (mg/L);
C ₁	adalah kadar oksigen terlarut glukosa-asam glutamat nol hari (mg/L);
C ₂	adalah kadar oksigen terlarut glukosa-asam glutamat 5 hari (mg/L);
B ₁	adalah kadar oksigen terlarut blanko nol hari (mg/L);
B ₂	adalah kadar oksigen terlarut blanko 5 hari (mg/L);

V_B adalah volume suspensi mikroba (mL) dalam botol DO blanko;
 V_s adalah volume suspensi mikroba per botol DO (mL) dalam standar glukosa-glutamat;
 P adalah perbandingan volume contoh uji dengan larutan pengencer.

- g) Perbedaan antara nilai replikasinya (RPD) tidak lebih dari 30%, rumus perhitungan %RPD adalah sebagai berikut :

Persen RPD

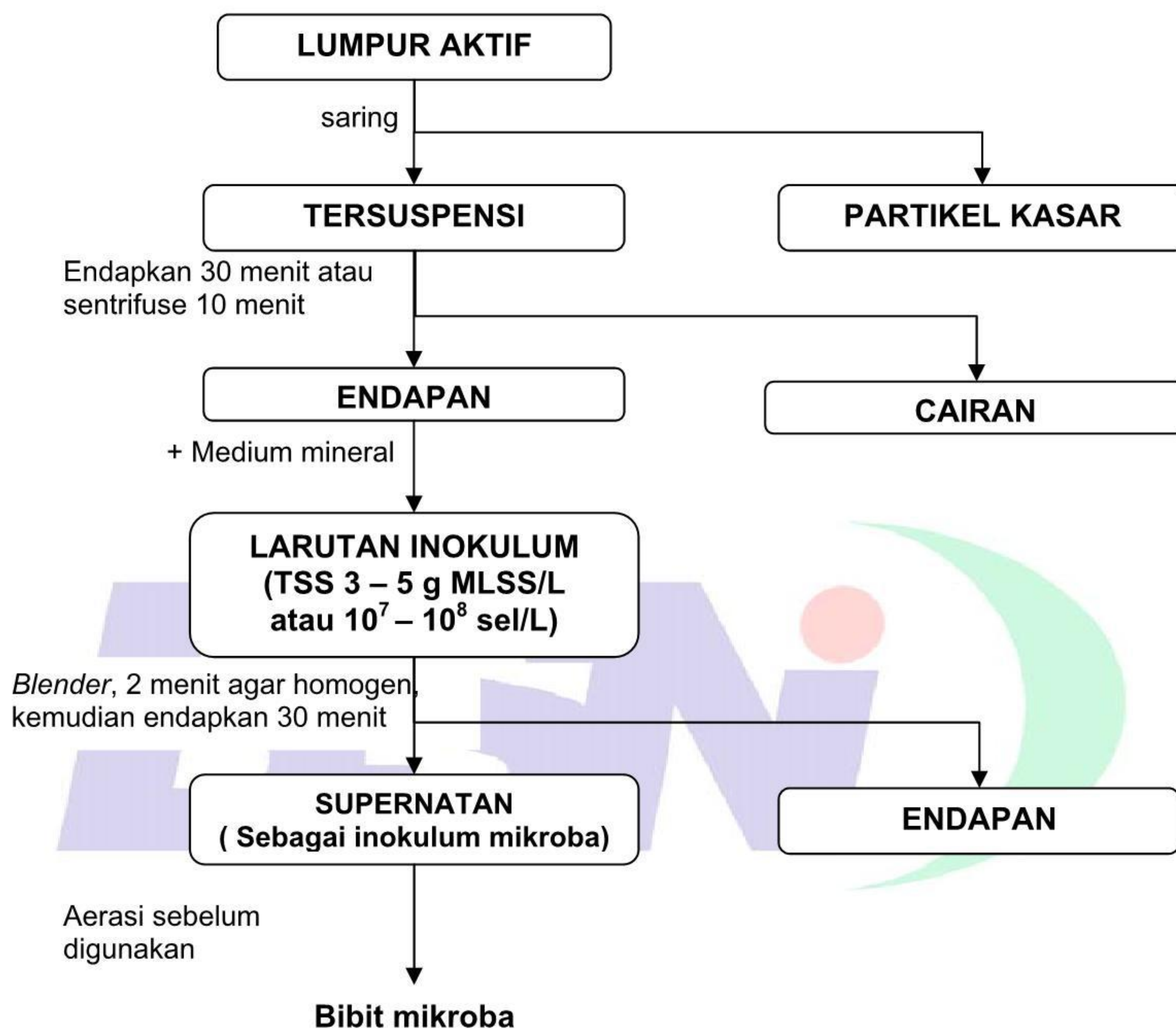
$$\%RPD = \left| \frac{\text{hasil pengukuran} - \text{duplikat pengukuran}}{(\text{hasil pengukuran} + \text{duplikat pengukuran})/2} \right| \times 100\%$$



Lampiran A

(informatif)

Bagan alir persiapan bibit mikroba



Sumber: OECD guideline for testing of chemicals, 301A -1992 ready biodegradability.

Lampiran B
(normatif)
Pembuatan medium mineral

B.1 Persiapan larutan induk

Buat 4 jenis larutan induk medium mineral, dengan menggunakan bahan-bahan kimia yang memiliki kualitas *pa*. Cara pembuatan dari masing-masing larutan induk medium mineral adalah sebagai berikut:

- 1) Larutan induk A
Larutkan 8,50 g kalium dihidrogen fosfat (KH_2PO_4); 21,75 g dikalium hidrogen fosfat (K_2HPO_4); 33,40 g dinatrium hidrogen fosfat dihidrat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) dan 0,50 g amonium klorida (NH_4Cl) dalam 1 L air bebas mineral. pH larutan akan menjadi 7,4. Bila tidak, maka diatur pada $7,4 \pm 0,2$ dengan penambahan HCl 0,1 N atau NaOH 0,1 N.
- 2) Larutan induk B
Larutkan 27,50 g kalsium klorida (CaCl_2) atau 36,40 g kalsium klorida dihidrat ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) dalam 1 L air bebas mineral.
- 3) Larutan induk C
Larutkan 22,50 g magnesium sulfat heptahidrat ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) dalam 1 L air bebas mineral.
- 4) Larutan induk D
Larutkan 0,25 g besi(III) klorida heksahidrat ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) dalam 1 L air bebas mineral.

B.2 Pembuatan medium mineral

- a) masukkan 10 mL larutan induk A ke dalam *Erlenmeyer* ukuran 2000 mL;
- b) tambahkan 800 mL air bebas mineral, kemudian aduk hingga homogen;
- c) tambahkan larutan induk B; induk C dan induk D masing-masing 1 mL, kemudian tambahkan kembali air bebas mineral sampai volumenya menjadi 1000 mL.

CATATAN 1 Untuk menghindari terjadinya kontaminasi terhadap larutan-larutan induk tersebut, tambahkan 1 tetes larutan HCl encer atau 0,4 g EDTA per liter larutan.

CATATAN 2 Jika terdapat endapan dalam larutan induk, gantilah dengan larutan induk yang baru.

Sumber: *OECD guideline for testing of chemicals, 301 -1992 ready biodegradability*

Lampiran C

(informatif)

Perkiraan nilai BOD₅ berdasarkan nilai COD dalam penentuan volume contoh dan volume air pengencer

Tabel C.1 - Volume contoh air untuk analisis BOD₅

Perkiraan nilai BOD ₅	Volume contoh	Volume air pengencer
0-7	300	0
6 - 21	100	200
12 - 42	50	250
30 -105	20	280
60 - 210	10	290
120 - 420	5	295
300 -1050	2	298
600 -2100	1	299
Sumber: Sawyer,C.N., and McCarty,P.L., 1978, <i>Chemistry for environmental Engineering</i> . New York, McGraw-Hill, p. 416-432.		

Lampiran D

(informatif)

Daftar konsentrasi jenuh oksigen pada suhu tertentu

Suhu (°C)	Tekanan udara(mmHg)										
	760.0	745.0	730.0	700.0	695.0	690.0	685.0	680.0	675.0	670.0	665.0
20.0	9.1	8.9	8.7	8.3	8.3	8.2	8.2	8.1	8.0	8.0	7.9
20.5	9.0	8.8	8.6	8.3	8.2	8.1	8.1	8.0	7.9	7.9	7.8
21.0	8.9	8.7	8.5	8.2	8.1	8.1	8.0	7.9	7.9	7.8	7.8
21.5	8.8	8.6	8.4	8.1	8.0	8.0	7.9	7.9	7.8	7.7	7.7
22.0	8.7	8.5	8.4	8.0	8.0	7.9	7.8	7.8	7.7	7.7	7.6
22.5	8.6	8.5	8.3	7.9	7.9	7.8	7.8	7.7	7.6	7.6	7.5
23.0	8.6	8.4	8.2	7.9	7.8	7.7	7.7	7.6	7.6	7.5	7.5
23.5	8.5	8.3	8.1	7.8	7.7	7.7	7.6	7.6	7.5	7.4	7.4
24.0	8.4	8.2	8.0	7.7	7.7	7.6	7.5	7.5	7.4	7.4	7.3
24.5	8.3	8.1	8.0	7.6	7.6	7.5	7.5	7.4	7.4	7.3	7.2
25.0	8.2	8.1	7.9	7.6	7.5	7.5	7.4	7.3	7.3	7.2	7.2
25.5	8.2	8.0	7.8	7.5	7.4	7.4	7.3	7.3	7.2	7.2	7.1
26.0	8.1	7.9	7.8	7.4	7.4	7.4	7.3	7.2	7.2	7.1	7.0
26.5	8.0	7.8	7.7	7.4	7.3	7.3	7.2	7.1	7.1	7.0	7.0
27.0	7.9	7.8	7.6	7.3	7.2	7.2	7.1	7.1	7.0	7.0	6.9
27.5	7.9	7.7	7.5	7.2	7.2	7.2	7.1	7.0	7.0	6.9	6.8
28.0	7.8	7.6	7.5	7.2	7.1	7.1	7.0	6.9	6.9	6.8	6.8
28.5	7.7	7.6	7.4	7.1	7.0	7.0	6.9	6.9	6.8	6.8	6.7
29.0	7.7	7.5	7.3	7.0	7.0	7.0	6.9	6.8	6.8	6.7	6.7
29.5	7.6	7.4	7.3	7.0	6.9	6.9	6.8	6.8	6.7	6.7	6.6
30.0	7.5	7.4	7.2	6.9							

Sumber: Lewis, M. E. *Dissolved Oxygen Version 2.0*, U.S. Geological Survey TWRI Book 9, 2006.

Lampiran E

(informatif)

Contoh format pelaporan hasil uji BOD₅

LAPORAN HASIL CONTOH UJI

Nomor contoh uji :

Pelaksana uji :

Air bebas mineral

Volume air bebas mineral (mL)	DO-nol (M_1), mg/L	DO-5 (M_2), mg/L	Penurunan DO ($M_1 - M_2$) mg/L

Air pengencer

Volume air pengencer (mL)	Volume mikroba (mL)	DO-nol (B_1) mg/L	DO-5 (B_2) mg/L	($B_1 - B_2$) mg/L	Konsumsi DO oleh mikroba (mg DO/mL larutan mikroba/botol BOD)

Hasil Uji BOD-5

Kode contoh	Volume air pengencer (mL)	Volume contoh uji (mL)	Vol. mikroba (mL)	DO-nol (A_1) mg/L	DO-5 (A_2) mg/L	($A_1 - A_2$) mg/L	Konsumsi DO oleh mikroba (mg/L DO/mL mikroba)	BOD

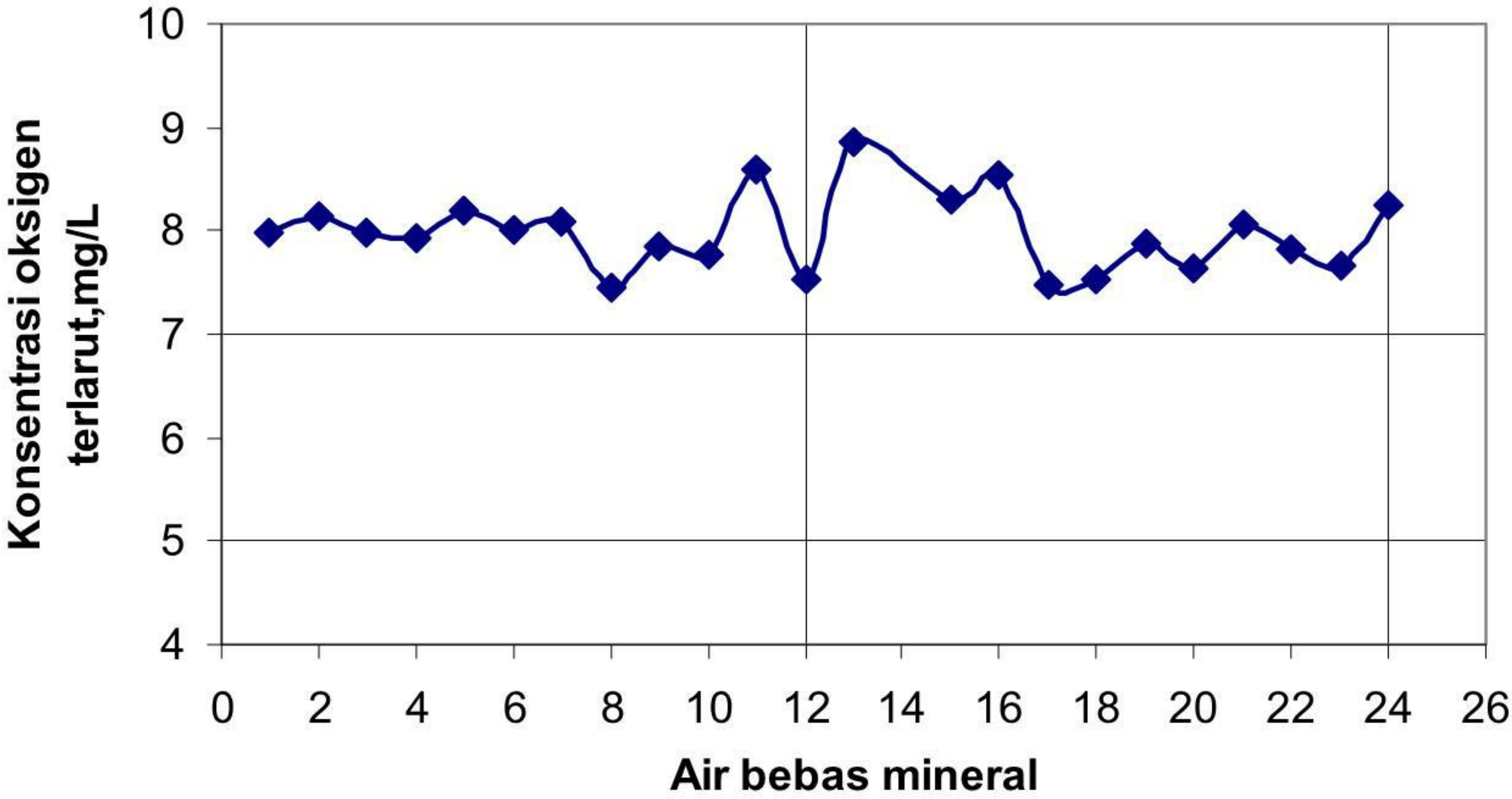
Lampiran F
(informatif)

Hasil verifikasi metode BOD

F.1 - Air bebas mineral

Kode contoh	DO-0 (M ₁), mg/L	DO-5 (M ₂), mg/L	Penurunan DO (M ₁ - M ₂) mg/L
1	7.8	7	0.80
2	7.92	6.96	0.96
3	7.67	6.9	0.77
4	7.81	6.95	0.86
5	7.82	6.87	0.95
6	7.81	6.88	0.93
7	7.67	6.9	0.77
Rata-rata	7.8	6.9	0.86
SD	0.09	0.05	0.08
KV (%)	1.14	0.7	9.8

Grafik konsentrasi oksigen terlarut air pengencer pada suhu 20⁰C setelah diaerasi 24 jam



F.2 Hasil validasi metoda BOD

F.2.1 Jumlah koloni mikroba pada larutan suspensi mikroba

a) Persiapan larutan suspensi mikroba, mengacu pada 4.2.3 cara 1.

Pengenceran larutan suspensi mikroba	Jumlah koloni (sel/mL)
$.10^{-2}$	6.10^5
$.10^{-4}$	14.10^6
$.10^{-6}$	14.10^7
$.10^{-8}$	0
$.10^{-10}$	0

b) Persiapan larutan suspensi mikroba , mengacu pada 4.2.3 cara 2.

Pengenceran larutan suspensi mikroba	Jumlah koloni (sel/mL)
$.10^{-2}$	Terlalu pada padat*
$.10^{-4}$	Terlalu pada padat*
$.10^{-6}$	Terlalu pada padat*
$.10^{-8}$	42.10^{10}
$.10^{-10}$	20.10^{12}
* tidak dapat dihitung	

F.3 Verifikasi metoda BOD, dengan metoda penyediaan bibit mikroba

F.3.1 Metoda 4.1.2 cara 1, dengan jumlah koloni : 10^6 sel/ mL)

Kode	Persiapan				Awal (0 hari)			Akhir (5 hari)			Δ DO (A1 – A2) mg/L	Faktor Kontrol bibit		BOD mg/L
	V Air (mL)	V GGA1 (mL)	F	V bibit (ml/L)	V btl (mL)	V.bibit mL/ botol	DO-0 (A1) mg/L	V btl (mL)	V.bibit (mL/botol)	DO-5 (A2) mg/L		Nilai	Rata-rata (Δ DO/ml bibit/ btl)	
Air					290	-	7,64	305	-	6,68	0,96			
Blanko1	700			2	295	0,59	7,66	305	0,61	6,44	1,22	2,03		
Blanko2	700			2	290	0,58	7,69	315	0,63	6,48	1,21	2,00	2,02	
GGA-1	700	14	50	1	294	0,29	7,82	330	0,33	2,49	5,33	0,63		235,04
GGA-2	700	14	50	1	298	0,30	7,37	305	0,305	2,52	4,85	0,61		212,10
GGA-3	700	14	50	1	293	0,29	7,64	305	0,305	2,52	5,12	0,60		225,85
GGA-4	700	14	50	1	300	0,30	7,52	300	0,30	2,64	4,88	0,61		213,75
GGA-5	700	14	50	1	294	0,29	7,37	315	0,315	2,42	4,95	0,61		216,80
GGA-6	700	14	50	1	298	0,30	7,44	298	0,298	2,49	4,95	0,60		217,45
GGA-7	700	14	50	1	294	0,29	7,44	298	0,298	2,49	4,95	0,60		217,65
Rata-rata							7,51			2,51	5,00	0,61		219,81
SD							0,16			0,07	0,17	0,01		8,00
RSD(%)							2,19			2,64	3,34	1,76		3,64

Jaminan Mutu :

DO - 5 hari (A2) > 1,0 mg/L

Δ DO (A1-A2) > 2,0 mg/L

Faktor kontrol bibit rata-rata : 0,6 – 1 mg/L per mL suspensi bibit per botol BOD

Nilai BOD GGA : $198 \pm 30,5$ mg/L atau 167,5 – 228,5 mg/L

F.3.2 Metoda 4.1.3.cara 2, dengan jumlah koloni : 10^9 sel/mL)

Kode	Persiapan				DO-0			DO-5			A1-A2 (mg/L)	Faktor control mikroba		BOD (mg/L)
	V Air (mL)	V GGA1 (mL)	F	V bibit (ml/L)	V btl (mL)	V.bibit mL/ botol	DO-0 (mg/L)	V btl (mL)	V.bibit (mL/botol)	DO-5 (mg/L)		Nilai	Rata-rata (Δ DO/ml bibit/ btl)	
Air					290	-	7,64	305	-	6,89	0,77			
B-1				1	290	0,29	7,74	305	0,305	7,0	0,74	2,49		
B-2				1	290	0,29	7,7	305	0,305	6,9	0,77	2,59	2,54	
GGA-1	700	10	70	1	295	0,295	7,81	305	0,305	4,18	3,63	0,76		200,81
GGA-2	700	10	70	1	295	0,295	7,42	320	0,32	3,84	3,58	0,78		195,97
GGA-3	700	10	70	1	295	0,295	7,61	315	0,315	3,83	3,78	0,77		210,42
GGA-4	700	10	70	1	287	0,287	7,66	325	0,325	3,85	3,81	0,78		212,34
GGA-5	700	10	70	1	295	0,295	7,53	315	0,315	3,98	3,55	0,77		194,32
GGA-6	700	10	70	1	295	0,295	7,4	315	0,315	4,01	3,39	0,77		183,12
GGA-7	700	10	70	1	285	0,285	7,62	330	0,33	3,9	3,72	0,78		205,77
Rata-rata							7,58			3,94	3,64	0,77		200,39
SD							0,14			0,15	0,15	0,01		10,22
RSD(%)							1,88			3,21	4,03	0,98		5,10

Jaminan Mutu :

DO - 5 hari (A2) > 1,0 mg/L

 Δ DO (A1-A2) > 2,0 mg/L

Faktor kontrol bibit rata-rata : 0,6 – 1 mg/L per mL suspensi bibit per botol BOD

Nilai BOD GGA : $198 \pm 30,5$ mg/L atau 167,5 – 228,5 mg/L

LAMPIRAN G
(informatif)
Lembar modifikasi

Uraian	Menurut metoda acuan	Modifikasi	Alasan
Selisih konsentrasi oksigen terlarut air pengencer (air bebas mineral) pada nol hari dengan 5 hari	tidak lebih dari 0,2 mg/L dan disarankan tidak lebih dari 0,1 mg/L	Tidak lebih dari ± 1 mg/L	Sulit memperoleh air bebas mineral dengan kualitas baik
Pembuatan suspensi mikroba	Butir 4.2.3 cara 1 dan cara 3 sesuai metoda acuan	Ditambah satu cara lagi yang mengacu pada standar OECD 301A - 1992, yaitu pada butir 4.2.3. cara 2	<ul style="list-style-type: none"> Telaah dilakukan validasi dan dapat memenuhi syarat jaminan mutu. Lebih mudah dan dapat diperoleh mikroba yang aktif

"Hak Cipta Badan Standardisasi Nasional, copy standar ini dibuat untuk penelitian di lingkungan di website Akses SNI dan tidak untuk dikomersilkan"

Bibliografi

Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 21st Edition, 2005: Biochemical Oxygen Demand (5210).

Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 21st Edition, 2005: Pour Plate method (9215 B).

Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 21st Edition, 2005: Fixed and Volatile Solids Ignited at 550°C (2540 E).

OECD guideline for testing of chemicals, 301A -1992 ready biodegradability.

SNI 06-6989.14-2004, *Air dan air limbah - again 14: Cara uji oksigen terlarut secara yodometri (modifikasi azida).*

SNI 06-2875-1992, *Cara uji Kebutuhan Oksigen Biokimia air limbah.*

SNI 03-7016-2004, *Tata cara pengambilan contoh dalam rangka pemantauan kualitas air pada suatu daerah pengaliran sungai.*











BADAN STANDARDISASI NASIONAL - BSN
Gedung Manggala Wanabakti Blok IV Lt. 3-4
Jl. Jend. Gatot Subroto, Senayan Jakarta 10270
Telp: 021- 574 7043; Faks: 021- 5747045; e-mail : bsn@bsn.go.id